

PCT

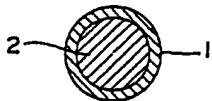
世界知的所有権機関
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|--|---------|-------------------------------------|
| (51) 国際特許分類 ⁴ A61M 1/02, 1/34, B01D 39/16 | A1 | (II) 国際公開番号 WO 87/05812 |
| | | (43) 国際公開日 1987年10月8日 (08.10.87) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP87/00194 | | |
| (22) 国際出願日 1987年3月28日 (28.03.87) | | |
| (31) 優先権主張番号 特願昭61-68580 | | |
| (32) 優先日 1986年3月28日 (28.03.86) | | |
| (33) 優先権主張国 JP | | |
| (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 旭メディカル株式会社 (ASAHI MEDICAL CO., LTD.) (JP/JP) 〒100 東京都千代田区南千住1丁目1番1号 Tokyo, (JP) | | |
| (72) 発明者: および | | |
| (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 西村謙雄 (NISHIMURA, Takao) (JP/JP) 〒870 大分県大分市大字志村468番地 Oita, (JP) | | |
| 清口義行 (MIZOGUCHI, Yoshiyuki) (JP/JP) 〒870 大分県大分市大字城原2160番地 Oita, (JP) | | |
| (74) 代理人 弁理士 片桐光治 (KATAGIRI, Mitsuji) 〒107 東京都港区赤坂4丁目3番1号 共同ビル赤坂312号 Tokyo, (JP) | | |
| (81) 指定国 DE (欧洲特許), FR (欧洲特許), GB (欧洲特許), IT (欧洲特許), JP, NL (欧洲特許), US. | | |
| 添付公開書類 | 国際調査報告書 | |

(54) Title: FILTER MEDIUM FOR SELECTIVELY REMOVING LEUCOCYTES

(54) 発明の名称 白血球選択除去用フィルター材料



(57) Abstract

A filter medium for selectively removing leucocytes, which comprises fibers having nonionic hydrophilic groups and basic nitrogen-containing functional groups at least on the peripheral surface thereof. The use of the filter medium of the present invention as a filter for removing leucocytes enables effective removal of leucocytes with a small loss of blood platelets, and hence it can be effectively used in blood platelet transfusion and the treatment of external blood circulation to remove leucocytes.

(57) 要約

本発明の白血球選択除去フィルター材料は纖維からなり、少なくともその周囲表面部分が非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を含有しているフィルター材料である。本発明のフィルター材料を白血球除去用フィルターに用いることにより、血小板の損失は少なくかつ白血球を効率よく除去できるので、血小板輸血や血液の体外循環白血球除去療法に有効に用いることができる。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出版のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

| | | | | | |
|----|-----------|----|-------------|----|--------|
| AT | オーストリア | FR | フランス | MR | モーリタニア |
| AU | オーストラリア | GA | ガボン | MW | マラウイ |
| BB | バルバドス | GB | イギリス | NL | オランダ |
| BE | ベルギー | HU | ハンガリー | NO | ノルウェー |
| BG | ブルガリア | IT | イタリー | RO | ルーマニア |
| BJ | ベナン | JP | 日本 | SD | スーダン |
| BR | ブラジル | KP | 朝鮮民主主義人民共和国 | SE | スウェーデン |
| CF | 中央アフリカ共和国 | KR | 大韓民国 | SN | セネガル |
| CG | コンゴー | LI | リビテンシュタイン | SU | ソビエト連邦 |
| CH | スイス | LK | スリランカ | TD | チヤード |
| CN | カメルーン | LU | ルクセンブルグ | TG | トーゴ |
| DE | 西ドイツ | MC | モナコ | US | 米国 |
| DK | デンマーク | MG | マダガスカル | | |
| FI | フィンランド | ML | マリー | | |

WO 87/05812

1

PCT/JP87/00194

明 細 書

白血球選択除去用 フィルター材料

技術分野

本発明は纖維からなる白血球選択除去用フィルター材料に関する。詳しくは、血小板と白血球の両者を含有する、血液に代表される細胞浮遊液から、血小板の損失が少なく白血球を効率良く除去する白血球選択除去用フィルター材料に関する。更に詳しくは、血小板輸血において輸血用血液の調製時に混入してくる白血球を血小板の損失を小さく抑えつつ除去したり、自己免疫疾患および白血病に対する液体外循環白血球除去療法において、血小板の損失を小さく抑えながら白血球を除去するための白血球選択除去フィルターに用いるフィルター材料に関する。

背景技術

輸血の分野において、患者の出血傾向を改善することを目的とした血小板輸血は重要な位置を占める。血小板輸血には、新鮮全血、新鮮濃厚赤血球、多血小板血漿、血小板濃厚液があるが、いずれの血小板輸血においても通常相当量の白血球が混入している。白血球の混入した血液を繰り返し輸注されると患者の体内では抗白血球抗体が産生されるようになる。こうした患者においては輸血時に輸注された白血球と患者体内の抗白血球抗体との間の抗原抗体反応が起こり、それにより悪寒、発熱、頭

5

10

痛、吐き気などの副作用が観察されるようになる。また、大量に新鮮なリンパ球が輸注されたり、患者の免疫系が何らかの理由で弱まっている場合には、供血者のリンパ球が受血者の組織を攻撃する G V H 反応が起こり易いことも知られている。また、最近、血小板輸血において混入白血球が少ない程、患者体内での輸注血小板の生存が良いことが知られている。以上の理由から、血小板輸血においては混入してくるリンパ球を含む白血球はできる限り除去され、かつ血小板の損失は少なくすることが望まれている。

15

一方、自己免疫疾患および白血病を対象として血液の体外循環による白血球除去療法が、薬物療法で見られるような副作用を伴なわない新しい治療方法として近年注目されてきている。この場合も、リンパ球を含む白血球は効率よく除去され、かつ血小板の損失が少ないことが当然のことながら望まれている。

20

従来こうした白血球除去は、連続遠心分離機などの遠心分離装置を用いて行なわれてきた。しかしながら、その白血球除去効率は余り高くなく、同時に血小板を含むその他の有用な血液成分もかなり失なわれてしまい、操作は煩雑で、装置も一般に高価であるという問題があった。

白血球除去の手段として、繊維に白血球を付着させて除去するフィルター法は、白血球除去効率が高く、赤血

WO 87/05812

3

PCT/JP87/00194

球および血漿成分の損失は少なく、操作は簡便で、一般的に安価であるという特徴がある。

竹中らは、平均直径が3から10 μ mの纖維からなるフィルターが白血球を効率よく補促しうることを開示している（米国特許第4,330,410号、英國特許第2018151B号、仏国特許第7905629号、西獨国特許第2908722号）。渡辺らは、平均直径3 μ m未満の纖維からなる不織布フィルターが、白血球除去効率が高く、しかも血液処理速度を大きくできることを開示している（特開昭60-193468号及びヨーロッパ特許出願公開第0155003号）。しかしながら、これらの公知技術は血小板の挙動に関してはほとんど触れられておらず、実際にこれらの公知のフィルターに血液を流すと白血球と同時に血小板もかなり除去されてしまった。

黒田らは、纖維の表面に抗血栓性材料をコートしたフィルターを用いて、赤血球および血小板の混入が少ない白血球およびリンパ球の採取方法を開示している（特開昭55-129755号）。しかしながら、このフィルターに血液を流すと血小板の損失は少ないが、白血球の捕捉力も小さく、白血球の選択的除去はできなかった。

鶴田らは、塩基性含窒素官能基を有し、窒素含量が0.05～3.5重量%である重合体が、血小板が非常に粘着しにくいことを開示している（特開昭60-119955

WO 87/05812

PCT/JP87/00194

4

～119957号）。しかしながら、本公知技術はその重合体に対する白血球の挙動に関しては何ら開示していない。

5 以上の様に、現在までの所、血小板と白血球の両者を含有する細胞浮遊液から、血小板の損失が少なく白血球を効率よく除去する手段は知られていない。

発明の開示

本発明の目的は、血小板輸血や血液の体外循環白血球除去療法に有効に用いることのできる血小板の損失の少ないかつ白血球を効率よく除去する白血球選択除去フィルターに用いられるフィルター材料を提供することにある。

纖維に限らず一般にある材料に対する細胞の粘着性は、材料の表面の性質に依存する。

15 血小板の粘着を抑制することを目的として、材料の表面に親水性のモノマーをグラフト重合したり、親水性のポリマーを材料表面にコーティングしたすることは、しばしば行なわれる公知の技術である。しかしながら、こうして得られる材料表面は血小板を粘着しにくくすると同時に、一般的に白血球も粘着しにくくなり、本発明の目的である粘着による血小板の損失が少なく、かつ白血球は効率よく粘着させて除去する白血球の選択除去のための手段としては用いられないものであった。

一方、塩基性含窒素官能基を有する材料は、細胞を浮

WO 87/05812

5

PCT/JP87/00194

遊させるような生理的液体中で材料表面が正荷電を有するようになり、負荷電を有する血小板および白血球をともによく粘着させるというのが一般的な現象であった。

本発明者らは、血小板は粘着しないが白血球は粘着させる白血球選択粘着性材料の開発を銳意検討してきた結果、驚くべきことに、周囲表面部分に非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を有し、かつその部分の塩基性の窒素原子の含量が0.2～4.0重量%である纖維が、血小板は粘着しにくいにもかかわらず、白血球は粘着しやすいという今までの纖維にはなかった特性を有すること及びこの纖維をフィルター材料に用いることにより、血小板の損失を小さく抑えながら白血球の除去を効率よく行なうことができることを見出した。これらの新規な知見に基づき本発明者らは本発明を完成するに到ったものである。即ち、本発明によれば、纖維からなる白血球選択除去用フィルター材料にして、各纖維はボディー部分及び周囲表面部分よりなり、該纖維の少なくとも周囲表面部分が非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有しており、該周囲表面部分中の塩基性窒素原子の含量が0.2～4.0重量%であることを特徴とするフィルター材料が提供される。

本発明のフィルター材料に纖維を用いているのは、重量あたりの表面積が大きく、効率よく白血球を除去でき、しかもフィルターという形状にしやすいからである。

WO 87/05812

6

PCT/JP87/00194

本発明のフィルター材料は、各纖維のボディー部分と周囲表面部分（以下しばしば単に“表面部分”と称す）のうち少なくとも周囲表面部分が非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有している物質からなるものである。換言すれば、本発明のフィルター材料に用いられる纖維はそのボディー部分と周囲表面部分が別に形成され、周囲表面部分だけが前記物質からなっていてもよいし、ボディー部分と周囲表面部分とが一体的に形成されており、或いはボディー部分と周囲表面部分の両者、即ち纖維全体が前記物質からなっていてもよい。またボディー部分は纖維の両端表面部分を含むが、その両端表面部分も前記物質からなるものでもよいし、そうでなくてよい。

本発明において非イオン性親水基としてはヒドロキシル基およびアミド基などが挙げられる。また塩基性含窒素官能基としては、第一級アミノ基、第二級アミノ基、第三級アミノ基、4級アンモニウム基、およびピリジル基、イミダゾリル基などの含窒素芳香環基等が挙げられる。

本発明において塩基性窒素原子とは上記塩基性含窒素官能基中の窒素原子を示し、本発明のフィルター材料においては、非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を含有する部分における塩基性窒素原子の含量が、0.2~4.0重量%であることが必要である。塩基性窒素原子の含量

WO 87/05812

7

PCT/JP87/00194

が0.2重量%未満だと血小板とともに白血球も粘着しにくくなるために白血球の選択的除去は行なえない。一方、
5 塩基性窒素原子の含量が4.0重量%を越えると、血小板及び白血球ともに粘着しやすくなり、この場合も選択的白血球除去は行なえない。より好ましい塩基性窒素原子の含量の範囲は、0.3~1.5重量%である。本発明のフィルター材料に用いられる後述の各種の材料において最適の塩基性窒素原子の含量は、各種材料を構成する官能基の種類および目的とする使用条件（例えば、血液に添加する抗凝固剤の種類が大きく影響する）に応じて適宜選択することができる。なお、抗凝固剤に関しては種々のものを適用しうるが、クエン酸系の抗凝固剤〔A C D (acid-citrate-dextrose)、C P D (citrate-phosphate-dextrose)〕などが血小板が安定してフィルターを通過しやすいために好ましく用いられる。ヘパリンを使用した場合は、小量の血液を小さなフィルターで短時間のうちに処理する場合は問題にならないことが多いが、血液処理量が増えてフィルターも大きなものを使用すると、
10 血小板が活性化されて通過しにくくなる傾向がある。
15 また、本発明において非イオン性親水基の量は、ヒドロキシル基、アミド基あるいはポリエチレンオキド鎖中のエチレンオキシド単位として、塩基性窒素原子の量に対して等モル以上であることが好ましく、より好ましくは3倍モル以上である。

塩基性含窒素官能基及び非イオン性親水基の量、および塩基性窒素原子の含量は多重全反射赤外線分光計を用いる赤外線吸光度法や元素分析などの通常の公知の方法により測定することができる。

5 本発明のフィルター材料の纖維は、その纖維の平均直径が $10\text{ }\mu\text{m}$ 以下であることが好ましく、 $3\text{ }\mu\text{m}$ 未満であるとより好ましい。これは、纖維フィルターの単位重量あたりの白血球除去性能は、纖維の平均直径が小さいほど高いからである。しかしながら、纖維の平均直径が $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 未満になるとフィルターが目詰まりしやすくなり、また赤血球の膜を傷つけて溶血しやすくなるため、纖維の平均直径は $0.3\text{ }\mu\text{m}$ 以上であることが好ましい。白血球除去性能などの点から平均直径 $0.5\sim 2.0\text{ }\mu\text{m}$ の纖維が最も好ましく用いられる。

10 15 本発明でいう纖維の直径（纖維径）とは次式で定義するものである。

$$x = 2 \sqrt{\frac{1}{\pi} \cdot \frac{W}{\rho \cdot l}} \cdot 10^4$$

ここで x は μm 単位で表わした纖維の直径であり、 W は g 単位で表わした纖維の重さであり、 ρ は g/cm^3 単位で表わした纖維の密度であり、 l は cm 単位で表わした纖維の長さである。纖維の平均直径とは、各纖維の直径を平均した値をいう。

本発明のフィルター材料は、白血球除去フィルターと

WO 87/05812

9

PCT/JP87/00194

して用いる際に単なる纖維の塊の状態で用いることができ、また織布や不織布の形状にして用いることもできる。

5

しかしながら、織布及び不織布の方が一般に単位重量あたりの白血球除去性能が高く、また、血液の流れる方向における纖維フィルターの厚みを薄くすることができ、それにより圧力損失が小さく、大きな血液処理速度を出せるようになるので好ましい。製造の容易さ（特に纖維径の小さい場合）の点から不織布の形が最も好しく用いられる。

10

15

20

前述のように、本発明のフィルター材料の各纖維は周囲表面部分が前述のような非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を含む物質からなり、ボディー部分がその物質とは化学組成の異なる物質からなっていてもよいし、また、纖維全体が、前述のような非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を含む物質からなるものでもよい。しかしながら、製造上の容易さ及び製造コストなどの観点から、前者の方が好ましい。第1図は前者の場合の纖維の模式的な断面図を示すものである。表面部分1とボディー部分2は化学的組成が異なっており、1の厚みは実際には非常に薄く、纖維の直径に比較すればほとんど無視しうる程度である。表面部分1は非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有し、前述のようにその塩基性の窒素原子の含量が0.2~4.0重量%である特殊な化学組成を有している必要がある。後述するような一般の纖

WO 87/05812

10

PCT/JP87/00194

5 繊維に用いられるような汎用高分子材料を用いてボディー 2 を製造し、後で前記の特殊な化学組成を有する表面部分 1 を形成させる方が、この特殊な化学組成を有する材料で均一な構造を有する纖維全体を製造するより、技術的に容易であり、全体的なコストも低くできる。

10 更に具体的に説明すると、まず纖維のボディー部分と周囲表面部分の両者が一体に形成されており、全体にわたって非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を含有し その塩基性窒素原子の含量が0.2~4.0重量%である場合は、後述のモノマーを重合して得られるポリマーを紡糸することにより得ることができる。又、第1図に示すようなボディー部分2の周囲表面に前述のような特殊な化学組成を有する表面部分1を形成させたものであるが、ボディー部分と周囲表面部分とが一体的に形成されてい 15 る纖維を得る方法として、薬品処理、紫外線照射、低温プラズマ処理などによってボディー部分2の表面を改質して前述のような特殊な化学組成を有する材質にする方 法、表面グラフト重合により前述のような特殊な化学組成を有するグラフトポリマー層をボディー部分2の表面 20 に形成させる方法などを用いることができる。

一方、纖維のボディー部分と周囲表面部分とが別に形成されている場合は、非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを有し、塩基性の窒素原子の含量が0.2~4.0重量%であるポリマー材料をボディー部分となる纖維にコ

WO 87/05812

11

PCT/JP87/00194

一ティングする方法を用いることができる。このコーティングによる方法は、ボディー部分2の材質が何であるかを問わず一般的に適用できる方法であり、またボディー部分2の表面が物理的または化学的に不均一であっても前述の特殊な化学組成を有する表面部分1を安定に形成させることができるので好ましい。得られた纖維の断面構造も第1図で模式的に示される。

ボディー部分の材料としては、通常の公知のいかなる纖維も用いることができる。そのような纖維としては、
10 ポリエステル、ポリアミド、ポリアクリロニトリル、ポリメチルメタアクリレート、ポリエチレン、ポリプロピレンなどの合成纖維、セルロースアセテートなどの半合成纖維、キュプラアンモニウムレーヨン、ビスコースレーヨン、ビスコース・スフなどの再生纖維、綿、絹、毛纖維などの天然纖維、ガラス纖維、炭素纖維などの無機纖維などがあげられる。これらのなかでも合成纖維が好ましく用いられる。上記纖維の中で紡糸によって製造されるものを用いる場合は、製造の容易さなどの点から紡糸しやすいものを用いるのが好ましいのは当然である。

20 非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含む表面部分の纖維の表面からの平均厚みは約10Å以上あることが好ましい。平均厚みが10Å以下だと纖維の周囲表面を非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含む物質で完全に覆うことが難しくなり、血小板の損失を抑えて白

WO 87/05812

12

PCT/JP87/00194

5

10

20

血球を選択的に除去することが難しくなる。平均厚みの上限は特にない。ただ、ボディー部分の表面に非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含むポリマーを被覆形成する場合及びグラフト重合により周囲表面部分を形成する場合は、該ポリマーの被覆又はグラフト重合によって得られる周囲表面部分の平均厚みの上限は約 $1\mu\text{m}$ 未満であることが好ましい。平均厚みが $1\mu\text{m}$ 以上だと、該ポリマーの周囲表面部分を形成させるためのコストが高くなってしまったり、周囲表面部分の機械的強度が低い場合には周囲表面部分がはがれてフィルター処理される血液中に混入してしまったりするので好ましくない。より好ましい周囲表面部分の平均厚みの範囲は 40\AA 以上、 400\AA 以下である。

15

表面グラフト重合あるいはポリマーのコーティングによりボディー部分 2 の表面に非イオン性親水基および塩基性含窒素官能基を含有し、塩基性窒素原子の量が0.2～4.0重量%である周囲表面部分 1 を形成させる場合には、非イオン性親水基を有する一種類以上のモノマーと塩基性含窒素官能基を有する一種類以上のモノマーとを通常の表面グラフト重合させるか、あるいはこれらのモノマーを通常の方法で共重合させて得られるポリマーをコーティングに用いるのが一般的な方法である。コーティング材料の合成の方法としては、異種のモノマーをグラフトまたはブロック共重合させることもできる。これ

WO 87/05812

13

PCT/JP87/00194

5

をボディー部分に用いる纖維にコーティングすると、形成される周囲表面部分の層中にミクロ相分離構造を形成させることができる。また、非イオン性親水基を有するポリマーと塩基性含窒素官能基を有するポリマーを別々にあらかじめ合成しておき、コーティングの時にこれらのポリマーをブレンドしてコーティングに用いることもできる。

10

15

20

上記のグラフト重合及びコーティング用ポリマー材料の合成に用いることのできる非イオン性親水基を含有するモノマーとしては前述のヒドロキシル基およびアミド基を含むモノマー、例えば2-ヒドロキシエチル(メタ)アクリレート、2-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート、ビニルアルコール(酢酸ビニルとして重合後、加水分解させる)、(メタ)アクリルアミド、N-ビニルピロリドンなどが挙げられる。また、非イオン性親水基としては、前記のヒドロキシル基およびアミド基の他にポリエチレンオキサイド鎖も挙げられる。以上のモノマーの中でも、入手しやすさ、重合時の扱いやすさ、血液を流した時の性能などから、2-ヒドロキシエチルアクリレートおよび2-ヒドロキシエチルメタアクリレートが好ましく用いられる。

また、塩基性含窒素官能基を含むモノマーとしてはアリルアミン；ジメチルアミノエチル(メタ)アクリレート、ジエチルアミノエチル(メタ)アクリレート、ジメ

チルアミノプロピル(メタ)アクリレート、3-ジメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート等の(メタ)アクリル酸の誘導体; p-ジメチルアミノメチルスチレン、p-ジエチルアミノエチルスチレン等のスチレン誘導体; 2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、4-ビニルイミダゾール等の含窒素芳香族化合物のビニル誘導体; および上記のビニル化合物をハロゲン化アルキル等によって4級アンモニウム塩とした誘導体を挙げることができる。以上のモノマーの中でも、
10 入手しやすさ、重合時の扱いやすさ、血液を流した時の性能などから、ジメチルアミノエチル(メタ)アクリレートおよびジエチルアミノエチル(メタ)アクリレートが好ましく用いられる。

本発明のフィルター材料の製造に当り、前述のコーティング用ポリマー材料をボディー部分となる纖維にコーティングするには、前記のポリマー材料を適当な溶媒に溶解させた溶液に纖維を浸した後、機械的な圧縮、重力、遠心分離などによって余剰の溶液を纖維から除去し、乾燥気体中または真空中で、常温でまたは加温しながら乾燥するなどの方法を用いることができる。
15

コーティングの前に、上記のポリマー材料と纖維との接着をよくするために、纖維の表面を適当な薬品で処理することもできる。また、コーティングの後で熱処理を加えることにより、纖維と上記材料の接着を強めたり、
20

WO 87/05812

15

PCT/JP87/00194

5

上記ポリマー材料内で架橋反応を起させて纖維表面層を安定化させたりすることもできる。尚、コーティングは纖維を紡糸する時に同時に行なってもよいし、紡糸後行なってもよい。また、本発明のフィルター材料を織布あるいは不織布の形状で白血球除去フィルターとして用いる場合には、該ポリマー材料のコーティングは、纖維を織布あるいは不織布の形状にする前に行なってもよいし、織布あるいは不織布の形状にした後に行なってもよい。

10

15

20

本発明のフィルター材料を白血球除去用フィルターに用いるには、本発明のフィルター材料を通常の公知の血液の入口と出口を有する適当な血液沪過用フィルター溶器に充填して使用する。充填の際のフィルター材料のカサ密度はその纖維の平均直径によって異なるが、0.02～0.7g/cm³であることが好ましい。ここでいうカサ密度とは、容器内で血液処理に有效地働く本発明のフィルター材料の重さを、それが占める空間の体積で割ったものである。本発明のフィルター材料が織布または不織布の場合、その厚さによって異なるが1枚で用いてもよいし、複数枚数を重ねて用いてもよい。重ねる枚数としては血液沪過の条件によって異なり臨界的ではないが、通常数枚から数十枚が用いられる。

WO 87/05812

16

PCT/JP87/00194

発明を実施するための最良の形態

本発明をより詳細に記述するために実施例により説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例にのみ限定されるものではない。

5 実施例 1 ~ 3 及び比較例 1 ~ 4

2-ヒドロキシエチル メタアクリレート（以下 H E MA と略称する）とジエチルアミノエチル メタアクリレート（以下 D E A M A と略称する）のコポリマーを通常の溶液ラジカル重合によって合成した。重合条件としては、エタノール中のモノマー濃度 1 モル/l で開始剤としてアゾイソブチロニトリル（A I B N）1/200 モル/l 存在下、60°C で 8 時間重合反応を行なった。得られたポリマーの塩基性窒素原子の含量を元素分析によって求めた。平均直径 1.8 μm のポリエチレンテレフタレート繊維よりなる不織布 (60g/m² 目付) を直径 25mm の円形に切断し、これを上記のコポリマーの 0.1% エタノール溶液に浸した後、不織布に吸収された余分なポリマー溶液は押ししほって除去し、フィルター ホルダーに 2 枚ずつセットして乾燥空気を送りながら乾燥させた。

10 20 このようにしてコーティングした不織布を 2 枚ずつフィルター ホルダー（柴田科学器械工業（株）製）にセットし（厚み 1.0mm）、そこへ抗凝固剤として A C D (acid-citrate-dextrose) を添加した、ウシの新鮮血 5ml を、シリングジポンプを用いて 2ml/min の一定流速で室温にて

WO 87/05812

17

PCT/JP87/00194

流した。不織布通過前後の血液について、一定量の血液を採取してチュルク液にて希釀し血球計算板を用いて白血球濃度を測定した。また、採取した血液を1%シュウ酸アンモニウム溶液で100倍に希釀し血球計算板を用いて5 血液中の血小板濃度を測定した[ブレッカー クロンカイト(Brecher-Cronkite)法]。次式により、白血球除去率および血小板通過率を求めた。

白血球除去率 (%)

$$10 = \left\{ 1 - \frac{\text{不織布通過後の白血球濃度}}{\text{不織布通過前の白血球濃度}} \right\} \times 100$$

血小板通過率 (%)

$$= \frac{\text{不織布通過後の血小板濃度}}{\text{不織布通過前の血小板濃度}} \times 100$$

第1表に、コーティングしたHEMAとDEAMAと15 のコポリマー中のDEAMA単位の含量(モル%)および塩基性窒素原子の含量(重量%)と、白血球除去率および血小板通過率との関係を示す。

コーティングなしのフィルター材料(比較例4)は、渡辺らが開示したフィルターに相当し、DEAMA含量20 0%のポリマー(すなわちHEMAのホモポリマー)をコーティングしたフィルター材料(比較例1)は、黒田らが開示したフィルターに相当する。

血小板の損失が少なく、かつ効率よく白血球を除去する白血球選択除去フィルターとしては、血小板の通過率

WO 87/05812

18

PCT/JP87/00194

は75%以上で、かつ白血球の除去率は85%以上であることが実用上必要である。

第1表からわかるように、コーティングなしのフィルター（渡辺らのフィルター）（比較例4）では、白血球除去率は88.8%と十分に高いが、血小板通過率はわずか12.9%と低くて、白血球の選択的除去はできていない。

一方、HEMAのホモポリマーをコーティングしたフィルター（黒田らのフィルター）（比較例1）は、血小板通過率は77.0%と高いが、白血球除去率は68.3%と低く、これも白血球の選択的な除去は行なわれていない。

また、非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基を有する材料をコーティングした場合であっても、第1表に見られるように塩基性窒素原子の含量が0.11%と小さい（比較例2）と、血小板通過率は91.6%と高いが、白血球除去率は66.3%と低くて白血球の選択的除去は行なえないし、逆に塩基性窒素原子の含量が7.56%と大きく、しかも非イオン性親水基がない（比較例3）と白血球除去率は98.1%と高いが、血小板通過率は3.2%と低く、これも白血球の選択的除去は行なわれていない。塩基性窒素原子の含量が0.53%、1.03%、1.98%の材料はいずれも、85%以上の白血球除去率と75%以上の血小板通過率を同時に達成し、白血球の選択的除去が行なわれている。

WO 87/05812

PCT/JP87/00194

19

第 1 表

| | 比較例 1 | 比較例 2 | 実施例 1 | 実施例 2 | 実施例 3 | 比較例 3 | 比較例 4 |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|
| D E A N A 含量 (モル %) | 0 | 1 | 5 | 10 | 20 | 100 | コーティング なし |
| 窒素原子含量 (重量 %) | 0 | 0.11 | 0.53 | 1.03 | 1.98 | 7.56 | (0) |
| 白血球除去率 (%) | 68.3 | 66.3 | 94.8 | 96.7 | 98.6 | 98.1 | 88.8 |
| 血小板通過率 (%) | 77.0 | 91.6 | 88.2 | 78.8 | 76.4 | 3.2 | 12.9 |

フィルター通過前の白血球濃度 7430 個 / μ lフィルター通過前の血小板濃度 147000 個 / μ l

実施例 4 ~ 6

HEMA とトリメチルメタアクリル酸エチル アンモニウムクロライドの共重合体で後者のモノマー単位の含量が 5 モル % のもの（塩基性窒素原子の含量は 0.52 重量 %、以下 HT と略称する）、HEMA と N-ビニルピロリドンとジメチルアミノエチル メタアクリレートの共重合体で、それぞれのモノマー単位の含量が 60 モル %、30 モル %、10 モル % であるもの（塩基性窒素原子の含量は 1.10 重量 %、以下 HVM と略称する）、HEMA とモノメトキシポリエチレングリコール メタアクリレート（エチレンオキサイド単位の繰り返し数 23）と DEAM A との共重合体でそれぞれのモノマー単位の含量が、80 モル %、5 モル %、15 モル % であるもの（塩基性窒素原子の含量 1.12 重量 %、以下 HME と略称する）をそれぞれ実施例 1 に記載と同様の方法の溶液重合で合成した。これらのポリマーをそれぞれ実施例 1 と同様に不織布にコーティングしてフィルター材料を作成し、それを実施例 1 に記載の容器に充填してウシ血液を流して血球の通過性を調べた。

結果を第 2 表に示す。HT、HVM、HME いずれをコーティングしたフィルター材料も、白血球を 85 % 以上除去し、かつ血小板を 75 % 以上通過させることのできる白血球選択除去フィルター材料であった。

WO 87/05812

21

PCT/JP87/00194

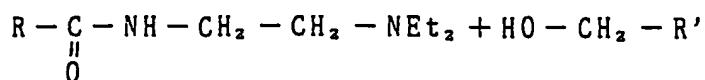
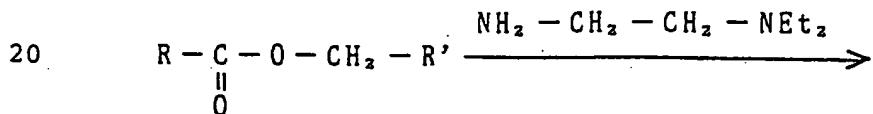
第 2 表

| | 実施例 4 | 実施例 5 | 実施例 6 |
|-------------------------|-------|-------|-------|
| | H T | H V M | H M E |
| 5 塩基性窒素原子の 含量 (重量 %) | 0.52 | 1.10 | 1.12 |
| 白血球除去率 (%) | 95.4 | 93.8 | 92.3 |
| 血小板通過率 (%) | 80.7 | 83.9 | 85.1 |

10 フィルター通過前の白血球濃度 5470 個 / μ l
 フィルター通過前の血小板濃度 273000 個 / μ l

実施例 7

15 実施例 1 で用いたものと同じ不織布を、 N, N-ジエチルエチレンジアミンとメタノールの 1 : 1 混合液に浸し、エステルーアミド交換反応によって不織布の表面に非イオン性親水基としてアミド基と不織布のポリエチレンテレフタレートのエステル基由来の水酸基を、そして塩基性含窒素官能基としてジエチルアミノ基を導入した。反応式を以下に示す。



WO 87/05812

22

PCT/JP87/00194

多重全反射赤外分光光度計によって纖維の表面を解析した所、エステル結合とアミド結合の比率はほぼ 9 : 1 で、塩基性の窒素原子の含量は約 1.3 重量 % であった。

この表面化学処理した不織布を、直径 25mm の円形に切
5 断し、実施例 1 と同様の方法でフィルターとして用い血
液を流した（フィルター通過前の白血球濃度 5740 個/
μl、血小板濃度 258000 個/μl）。

結果は、白血球除去率が 86.5 %、血小板通過率が 81.0 % であり、白血球を選択的に除去していた。

10 実施例 8 及び比較例 5

実施例 1 で用いたものと同じ不織布を 67mm × 67mm の正方形に切断したものを 20 枚重ねて、第 2 図に示すようにカラム内にセットした。不織布フィルター層 6 は、2 枚の角型の枠体 4、4' を組み合わせてできているカラム
15 本体 3 の中にセットされており、その周辺部は圧着されている。5、5' はカラムの内側に設けられた突起であり、不織布フィルターの中央部を部分的に支持している。

不織布フィルターの有効断面積は 60mm × 60mm = 3600mm² であり、厚みは 7mm である。HEMA と DEAMA との
20 コポリマーで DEAMA 単位の含量が 5 モル % であるポリマー（塩基性窒素原子の含量は 0.53 重量 %、以下 HE-5 と略称する）を 0.1 % エタノール溶液とし、上記の不織布をセットしたカラムに通過させた後、乾燥空気を送りながら乾燥させ、さらに真空で引いて十分に乾燥さ

WO 87/05812

23

PCT/JP87/00194

せた。

このようにして作製したカラムに、抗凝固剤 A C D を添加したウシの新鮮血 2 ℥ を 37°C で、 30 ml / 分の流速で流し、フィルターの白血球除去率および血小板通過率を 5 調べた(フィルター通過前の白血球濃度と血小板濃度は各々、 5800 個 / μ l と 315000 個 / μ l)(実施例 8)。比較のために H E - 5 をコーティングしていないフィルター材料についても同じ条件で試験した(比較例 5)。

結果は、コーティングしていないフィルター(渡辺らのフィルター)は、白血球除去率は 78.6 % 、血小板通過率は 78.2 % に対して、 H E - 5 をコーティングしたフィルター(本発明のフィルター)(実施例 8)は、白血球除去率は 89.3 % 、血小板通過率は 91.4 % であった。コーティングしていないフィルター材料のフィルターは、血液を 2 ℥ と大量に流すと血小板は比較的よく通過するようになるが、同時に白血球の除去率が落ちてしまい、白血球の選択的除去は十分にできない。これに対して H E - 5 をコーティングしたフィルター材料のフィルターは、このように大量の血液を流した場合でも十分に白血球の選択除去ができる。このことは、本発明のフィルター材料が血液の体外循環による白血球除去療法に適用しうることを示すものである。

実施例 9

平均直径 4.7 μ m のポリエチレン テレフタレート繊維

WO 87/05812

PCT/JP87/00194

24

よりなる不織布(88g/m²目付)を67mm×67mmの正方形に切断したものを14枚重ねて、実施例8と同様にカラムに充填し、HE-5ポリマーをコーティングした。実施例8と同様の方法でウシ新鮮血400ml(白血球濃度4830個/μl、血小板濃度284000個/μl)を流した所、フィルターの白血球除去率は86.1%で、血小板通過率は92.3%であり、白血球の選択的除去が行なうことができた。

実施例10及び比較例6

実施例1で用いたものと同じ不織布を67mm×67mmの正方形に切断したものを12枚重ねて、実施例8と同じようにカラムに充填し、HE-5ポリマーをコーティングした。ACDを添加した牛新鮮血より遠心分離によって調製した多血小板血漿(白血球濃度413個/μl、血小板濃度299000個/μl)500mlを、上記のカラムに室温にて、80cmの落差で自然落下によって流した(実施例10)。比較のために、コーティングしていないフィルター材料についても同様の条件で試験した(比較例6)。

結果は、コーティングしていないフィルター材料のフィルターは、白血球除去率は100%だが血小板通過率が69.7%と低いのに対して、HE-5をコーティングしたフィルター材料のフィルターは白血球除去率が100%だが血小板通過率が93.8%と、血小板の損失が少なく選択的に白血球を除去できた。

実施例 1 1 及び比較例 7

実施例 1 で用いたものと同じ不織布を直径 70mm の円形に切断したものを 8 枚重ねて、実施例 8 と同じようにカラムに充填し、フィルターの有効断面積 28.3cm²、厚み 4mm としたものに、HE-5 ポリマーをコーティングした。ACD を添加したウシ新鮮血より遠心分離によって調製した血小板濃厚液（白血球濃度 4675 個 / μ l、血小板濃度 550000 個 / μ l）を 300ml、上記のカラムに 80cm の落差で自然落下によって流した（実施例 1 1）。比較のためにコーティングをしていないフィルター材料についても同様の実験を行なった（比較例 7）。

結果は、コーティングしていない場合は、白血球除去率は 93.1% と高いが血小板通過率は 60.5% と低いのに対して、HE-5 をコーティングしたフィルター材料のフィルターは白血球除去率 92.0%、血小板通過率は 88.1% と、血小板の損失が少なく選択的に白血球を除去できた。

図面の簡単な説明

第 1 図は、周囲表面部分とボディー部分で化学的組成が異なる構造を有する本発明のフィルター材料の繊維の模式的な断面図を示すものである。

1 : 繊維の周囲表面部分

2 : 繊維のボディー部分

第 2 図は、本発明のフィルター材料を充填したフィル

ター（カラム）の一具体例の側断面図である。

3：カラム本体

4、4'：角型の枠体

5、5'：突起

6：不織布フィルター層

7：血液の入口

8：血液の出口

産業上の利用可能性

10 本発明のフィルター材料は、血小板の損失は少なく、白血球を効率よく除去する白血球選択除去フィルターとして用いるのに極めて有効である。本発明のフィルター材料を用いて血小板輸血に混入している白血球を除去することによって、輸血時の副作用が軽減され、また輸注された血小板の患者体内での寿命も延長することが期待される。本発明のフィルター材料を用いて、自己免疫疾患あるいは白血病の患者に対して血液の体外循環による白血球除去療法を行なえば、短時間に効率よく白血球を除去でき、かつ、その他の有用な血液成分はほとんど失なわれないので、患者に対しては負担が小さく、良好な治療効果が得られることが期待される。

15

20

請求の範囲

1. 繊維からなる白血球選択除去用フィルター材料にして、各繊維はボディー部分及び周囲表面部分よりなり、該繊維の少なくとも周囲表面部分が非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有しており、該周囲表面部分中の塩基性窒素原子の含量が0.2~4.0重量%であること5を特徴とするフィルター材料。
2. 該繊維の平均直径が10 μ m以下であるクレーム1のフィルター材料。
- 10 3. 該繊維の平均直径が0.3 μ m以上3.0 μ m未満であるクレーム1のフィルター材料。
4. 不織布の形状を有するクレーム1~3のいずれかのフィルター材料。
- 15 5. 該周囲表面部分と該ボディー部分とが別に又は一体的に形成されており、該ボディー部分が該周囲表面部分と異なった化学組成を有する物質からなるクレーム1~4のいずれかのフィルター材料。
- 20 6. 該周囲表面部分が、非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを有しており該周囲表面部分中の塩基性窒素原子の含量が0.2~4.0重量%であるポリマーからなり且つ該ポリマーと異なった化学組成を有する該ボディー部分の周囲表面に形成された被覆により構成されているクレーム5のフィルター材料。

WO 87/05812

28

PCT/JP87/00194

7. 該ボディー部分と該周囲表面部分とが一体的に形成されているクレーム5のフィルター材料。

8. 非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有する該周囲表面部分の塩基性窒素原子の含量が0.3~1.5重量%であるクレーム1~6のいずれかのフィルター材料。
5

9. 該ボディー部分と該周囲表面部分とが一体に形成されており、該ボディー部分と該周囲表面部分の各部分が非イオン性親水基と塩基性含窒素官能基とを含有しており、各部分の塩基性窒素原子の含量が0.2~4.0重量%であるクレーム1のフィルター材料。
10

WO 87/05812

PCT/JP87/00194

1/1

FIG. 1

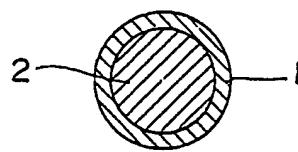
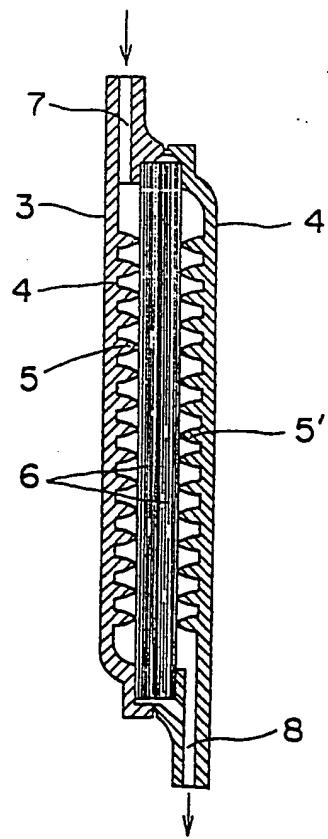


FIG. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/JP87/00194

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ³

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

IPC.C1⁴ A61M1/02, 1/34, B01D39/16

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ⁴

| Classification System | Classification Symbols |
|-----------------------|--|
| IPC | A61M1/02, 1/34, A61K35/14 B01D39/16 |

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁵Jitsuyo Shinan Koho 1966 - 1987
Jitsuyo Shinan Kokai Koho 1971 - 1987III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹⁴

| Category ⁶ | Citation of Document, ¹⁴ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹⁷ | Relevant to Claim No. ¹⁸ |
|-----------------------|---|-------------------------------------|
| A | JP, A, 61-48376 (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.) 10 March 1986 (10. 03. 86) Page 1, claim (Family: none) | 1 |
| P | JP, A, 61-226056 (Nippon Medical Supply Kabushiki Kaisha) 7 October 1986 (07. 10. 86) Page 2 (Family: none) | 1 |
| P | JP, A, 61-253071 (Asahi Medical Co., Ltd.) 10 November 1986 (10. 11. 86) Page 2 (Family: none) | 1 |

* Special categories of cited documents: ¹⁴

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search ⁹

June 15, 1987 (15. 06. 87)

Date of Mailing of this International Search Report ⁹

June 29, 1987 (29. 06. 87)

International Searching Authority ¹⁰

Japanese Patent Office

Signature of Authorized Officer ¹⁰

国際調査報告

国際出願番号 PC1/JP 87/ 00194

I. 発明の属する分野の分類

国際特許分類 (IPC) IPC C2

A 61 M 1/02, 1/34
B 01 D 39/16

II. 国際調査を行った分野

調査を行った最小限資料

| 分類体系 | 分類記号 |
|------|---|
| IPC | A 61 M 1/02, 1/34, A 61 K 35/14 B 01 D 39/16 |

最小限資料以外の資料で調査を行ったもの

日本国実用新案公報 1966-1987年

日本国実用新案公開公報 1971-1987年

III. 関連する技術に関する文献

| 引用文献の カテゴリー | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 請求の範囲の番号 |
|----------------|--|----------|
| A | JP, A, 61-48376 (旭化成工業株式会社) 10. 3月. 1986 (10. 03. 86) 第1頁特許請求の範囲 (ファミリーなし) | 1 |
| P | JP, A, 61-226056 (株式会社 日本メディカル・ サプライ) 7. 10月. 1986 (07. 10. 86) 第2頁 (ファミリーなし) | 1 |
| P | JP, A, 61-253071 (旭メディカル株式会社) 10. 11月. 1986 (10. 11. 86) 第2頁 (ファミリーなし) | 1 |

※引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日
 若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献
 (理由を付す)

「O」図頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の
 日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日の後に公表された文献であって出
 願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解
 のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新
 規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の
 文献との、当業者にとって自明である組合せによって進
 歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリーの文献

IV. 認証

| | |
|---------------------------|--|
| 国際調査を完了した日 15. 06. 87 | 国際調査報告の発送日 29.06.87 |
| 国際調査機関 日本国特許庁 (ISA/JP) | 権限のある職員 特許庁審査官 津野 孝  |